クモ初期胚における細胞運動の追跡

谷 川 明 男¹⁾ 筑波大学第 2 学群生物学類

関 口 晃 一

筑波大学生物科学系

Synopsis

Tanikawa, Akio¹⁾ and Koichi Sekiguchi (Institute of Biological Sciences, The University of Tsukuba, Ibaraki 300-31): Migration of surface cells at the early developmental stages of a spider embryo. *Acta Arachnol.*, 28: 83-90 (1979)

Using the early embryos of Agelena opulenta, the cell migration along the surface of the embryo was examined. It was especially investigated whether the cells migrated inward through the central region of the germ disc. The central region of the germ disc is generally called blastopore or primitive groove. The embryos were immersed into liquid paraffin and were filmed one frame per two minutes with a 16 mm cinemicrographic apparatus attatched on a compound microscope. The cell migration was analyzed in detail on the cinefilms. cells being distributed along the area to a little upper of the equator at the stage of germ disc formation were observed migrating towards the germ disc during the early development. When those cells arrived at the margin of the germ disc they further migrate towards the blastopore moving over the germ disc, then at the blastopore these cells disappeared among the cells of the germ disc. Probably the cells migrated inwards penetrating the cell layer of the germ disc at the blastopore. During this migration most of the cells divided once. The inward cell migration at the blastopore was clearly perceived on the film at the stage when the posterior cumulus started its migration toward the equator.

緒 言

クモ卵では、発生の初期に卵表に胚盤ができ、その胚盤の中央に凹みが現われる。この凹みは、右くから原口、または原溝 (blastopore Rempel (1957); Montogomery (1909); primitivg rube Holm (1952); primitive groove Yoshikura (1958).) と呼ばれてきた。 しかし、この部分が発生にともなって、胚帯 (germband) の後部へ移動することは、Holm (1952) の実験によって

¹⁾ 現在の勤務先 横浜市港南区 神奈川県立 野庭高等学校

The present Adress. Noba High School, Konan-ku, Yokohama, Kanagawa-ken.

明らかである。このように、いわゆる原口といわれている部分が、発生にともなって胚の後端部に位置するようになり、少なくも口にならない例は、カブトガニ(関口;1966)や甲殻類(Shiino,1950)でも知られている。クモ類、カブトガニ類、甲殻類は何れも節足動物に属し、節足動物は、系統上前口動物群に属する。前口動物という言葉の起源は、いうまでもなく、胚の原口が後にその動物の口になるということであり、このことは、前口動物群の最大の特徴の一つである。しかし、上にも述べたように、上記の動物では、いわゆる原口は口にならないのであるから、少なくともこれらの動物を前口動物に属させるには、大きな矛盾がある。ここで考えられることの一つは、これらの動物における。いわゆる原口といわれているものが、果して、ウニやカエルの発生における原口と相同なものかどうかということである。

本研究は、この点を明らかにするために行なわれたものである。

原口とは「多細胞動物の発生初期において、胞胚期の終了後、内胚葉および中胚葉の材料が胚表から胚内に移動する際に生るず陥入箇所」である(岩波生物学辞典初版)。つまり、原口とは「囊胚形成(クモ卵では胚盤形成)に当って、細胞がこの部分を通って陥入してゆく場所」といい換えてよいであろう。原溝と呼んでいる場合も、原口とほとんど同意義に用いられているとみてよい。

したがって、クモ卵の原口または原溝と呼ばれている部分が、本来の原口と相同のものであることを立証するには、その周辺の細胞が、ここを通って卵の内部へ入って行くことを明らかにすればよいということになる。

Holm (1952) は、クモ卵の卵殻に穴をあけ、胚盤の周辺の細胞の上にカーボンの粉を乗せ、この粉が、原口の周囲に集まり、一部は内部へ入っていたことから、細胞が内部へ陥ち込むとしたが、厳密にいえば、この場合は粉末が集まったり陥ち込んだりしたのであって、細胞そのものが集まったり陥ち込んだりしたということを直接証明したことにはなっていない。

そこで筆者らは、主として微速度顕微鏡映画により、個々の細胞の動きを解析して、表層細胞の 胚盤への移動と、それらの細胞の原口からの陥入を、直接的に証明しようと試みた。

材料と方法

採集してきたコクサグモ(Agelena opulenta)を 9 cm シャーレ中で飼育し産卵させ,採取した卵は,流動パラフィンをたらしたホロー,スライドグラス中に沈め,その発生にともなり卵表の変化を,16 m/m の微速度顕微鏡映画と 35 m/m の顕微鏡写真とに撮影した。映画の撮影装置には,ニコン一CFMA,シネオートタイマー,ボレックス一H16J型カメラ,オリンパス一FHFTr 型顕微鏡を使用した。撮影は室温(23°C~25°C)で行なった。映画は 2 分に 1 コマの割合で,また写真は必要に応じた間隔をおいて連続撮影した。それらのフィルムを用いて,連続撮影の写真による解析,映画の正常・逆転両映写画面上での追跡,映画からのコマ焼写真のシリーズによる分析などを行い,時間経過に伴う発生の状態,とくに細胞の移動過程を詳細に追求した。

観察 結果

初期卵割は内部で行なわれるので、核とそれを取り巻く卵黄塊は、透過光線により、輪郭の不明瞭なシルエットとして観察される。核分裂は4~5時間周期で繰り返され、第4分裂まではかなり高度な同調性を示す。第5分裂から分裂の時期にずれを生じ、このずれはしだいに大きくなり、遅

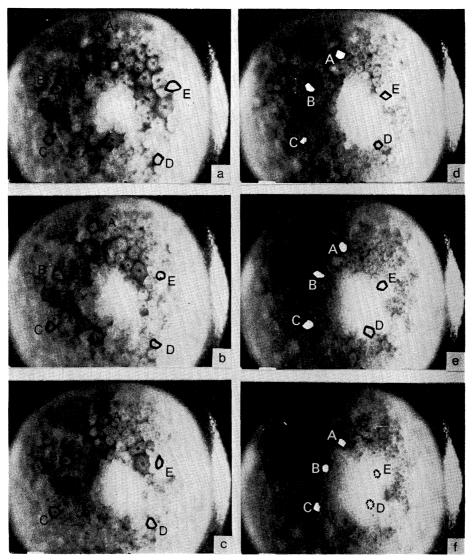


Fig. 1. Process of migration of five surface cells (A, B, C, D and E) during the germ disc formation in a spider embryo (a-f).

In f, cells D and E are indistinct because they lie on the germ disc and migrate toward the center of it. Intervals between successive photos are 8 hours, respectively.

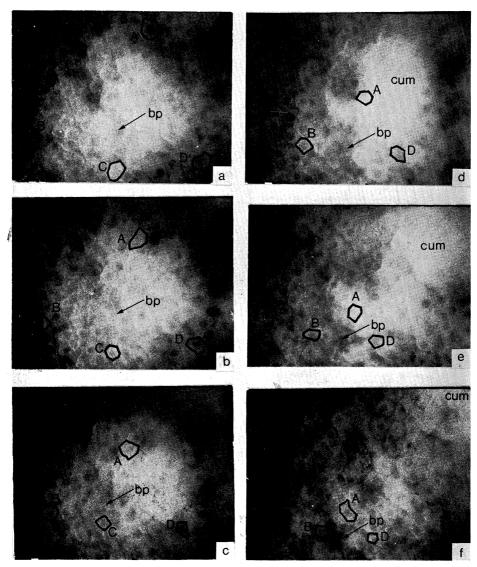


Fig. 2. Process of migration of four cells (A, B, C and D) on the germ disc (a-f). These cells center around the blastopore (bp) and then migrate into it. In d, cell C has already disappeared and in f, cell B is migrating into the blastopore. cum, cumulus posterior. Intervals between successive photos are 100 minutes, respectively.

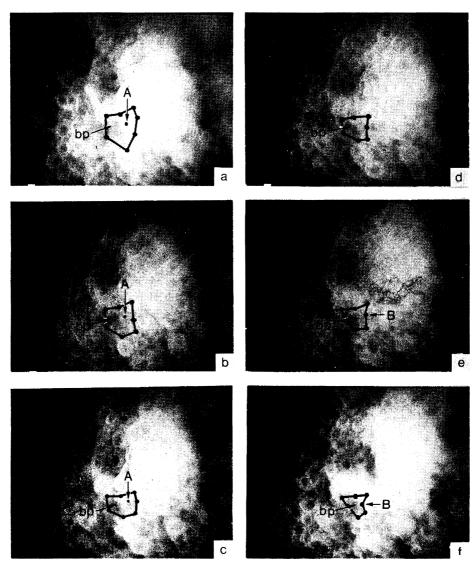


Fig. 3. Cell migration near the blastopore (a-f).

A set of seven cells around the blastopore (bp) were traced on the film, and lines were drawn from center to center of each cell. In a, there is a cell A within the polygon. Cell A begins to migrate into the blastopore in b, almost disappearing in c. In d, it has already disappeared and the polygon encircles just the blastopore. In e and f, cell B begins to migrate inward. Intervals between photos a, b, c and d are 40 minutes and those between d, e and f are 20 minutes.

いものの第9分裂と早いものの第10分裂はほぼ連続して見られるようになる。

第8分裂を終えると、胞胚細胞層は完成し、第9分裂では細胞の分裂に伴う卵黄の動きは見られなくなる。この時卵黄内には、卵黄核として取り残された核がいくつか存在する。

さらにほとんどの細胞が第10分裂を終えると、胞胚細胞層は収縮を起こすが、この収縮に先だち、まず卵黄の収縮が起こる。この胞胚細胞層の収縮の項から、細胞は小きざみな運動をするようになる。これは、映画の画面上では、ちょうど水分子のブラウン運動に揺り動かされる花粉粒と同じような振動として見られる。

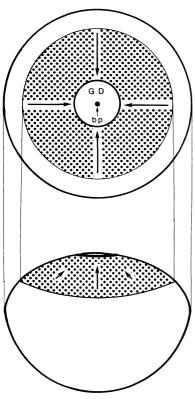


Fig. 4. Spider embryo at the stage immediately after formation of the germ disc, ventral (upper) and lateral (lower) views.

The dotted area indicates that "presumptive area", the surface cells of which migrate into the germ disc (GD); arrows within the dotted area indicate direction of migration. bp, blastore.

胞胚細胞層が収縮して卵黄塊の表面を包んだ後, その卵表の一部に胚盤が形成される。初期の胚盤は, 小さな白斑として認められるが,この胚盤に向って, 周辺部からの表層細胞の集合が起こり,胚盤は徐々 に拡大してゆく。

その様子を表わしたのが、Fig. 1, $a \sim f$ である。これらは、16 m/m フィルムからコマ焼きした写真で、五つの細胞(A, B, C, D, E)の移動の過程を示したもである。各図の間のインターバルは8時間である。すなわち f は a の40時間後の姿であるが、ほとんどの細胞はこの間に1回分裂をしている。それにも係わらず、Fig. 1, $a \sim f$ において最後まで細胞が五つだけしか示されていないのは、分裂後、任意の一方を選び追跡を続けたためで、分裂した他方の細胞もそれぞれの近くにあるが、これは省略した。集合してきた細胞は胚盤上に乗り上げ、さらに中心へと移動するが、Fig. 1, f においては、細胞 Dと細胞 E は胚盤上をこの位置まで移動したのち確認できなくなっている。

Fig. 2, a~f も Fig. 1 と同様、16 m/m フィルムからのコマ焼写真で、クムルスの形成から、その移動の初期にかけての胚の原口付近を拡大し、胚盤域内での細胞(A, B, C, D)の移動の過程を示したものである。各図の間のインターバルは、100分である。これらの図によって、胚盤域内においても、細胞の集合が原口(bp)に向って引き続き起こっていることが明らかである。Fig. 2, d において、細胞Cが見られないのは、この細胞は、Fig. 2, c 以後、この時期までの100分の間に、原口から陥入したためである。なおこの図では、クムルス(Cum)は、Fig. 2, d の項に出現し、e, f, にかけて右上方

に移動している。

Fig. 3, $\mathbf{a} \sim \mathbf{f}$ は、細胞陥入の像をさらに詳しく追跡したものである。これも Fig. 2 と同様コマ焼写真のシリーズから、さらにインターバルを縮めて抜きだしたものである。インターバルは、 \mathbf{a} と b, b と c, c と d の間がそれぞれ40分,d と e 及び e と f の間はそれぞれ20分である。ここでは、原口の周囲の7個の細胞を選び、それぞれの時期において対応する細胞の中心を線で結んでみた。 Fig. 3, a においては、これらの線によって囲まれた多角形の右上の隅に1個の細胞が存在しているが,b になるとこの細胞は隠れ始め,c ではほとんど見えなくなる。d では完全に沈み込み、多角形はほぼ原口の周囲の間近を取り囲んでいる。Fig. 3, e における細胞 Bは f で陥入し始めている。

以上のような観察から,胚盤出現直後の胚について,細胞が集合して来る範囲を求めてみると,その範囲は Fig. 4 に示してあるとおり,平面図において,卵の直径を1 としたときに,その約0.8 を直径とする円を占める。

考 察

本研究を通じて、胞胚層が完成するまでの卵割回数が8回であることが明らかになったが、これは Holm (1952) の結果とほぼ一致する。周辺細胞の胚盤への集合については、直接的にこれを証明した。原口からの細胞の陥入についても、少なくともクムルスの形成、移動期において、その陥入像を捉えることができた。この時期は、胚盤形成期としてはかなり遅い時期ではあるが、原口から細胞の陥入が起こっているという事実と、胚盤形成の初期において周辺細胞が胚盤に向って集合し、それに伴って胚盤が拡大してゆくという事実は、胚盤形成初期においても原口からの細胞の陥入が起こっているということの有力な裏付けであると思われる。すなわち、クモ胚において、従来、原口と呼ばれて来た所は、いわば定義通りの原口であり、従来の呼び方に誤りはなかったことになる。

この結論の大筋は、既に Holm (1952) によって明らかにされているところと一致するが、先にも述べた通り、彼の実験が、いわば間接的な証明であるのに対して、本研究は直接的に証明した点で意義があると考える。

なお、この実験の示す限りでは、少なくともクモは"前口"動物と呼ぶにふさわしくないことがますます明らかとなった。しかし、これを系統の問題として論ずるためには、さらに広汎な研究が必要なことは言うまでもない。

引用文献

HOLM, Å., 1952. Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklung und Entwicklungsphysiologie des Spinnenembryos. Zool. Bidrag Uppsala, 29: 293-424.

Montomery, T.H., 1909. The development of *Theridium*, an Aranead, up to stage of reversion. J. Morphol., 20: 297-352.

Rempel, J.G., 1957. The embryology of the black widow spider, Latrodectus mactans (Fabr.) Can. J. Zool. 35: 35-74.

関口晃一, 1966. カブトガニ卵の実験発生学的研究。実験形態学誌, 20:84-89.

SHIINO, S., 1950. Studies on the embryonic development of Palinurus japonicus (Siebold).

J. Fac. Fishers, Prefecterate Univ. of Mie. 1: 1-168.

Yoshikura, M., 1958. On the development of a purse web spider, *Atypus karschi* Dönitz. *Kumamoto J. Sci.*, *Ser.* B, 3: 73-86.